

Varian Molekular Defisiensi Glukosa-6-Fosfat Dehidrogenase

Teresa Liliana Wargasetia

Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

Pendahuluan

Defisiensi Glukosa-6-Fosfat Dehidrogenase (G6PD) adalah penyakit genetik terpaut kelamin yang telah menyerang kurang lebih 400 juta orang di seluruh dunia dan mempunyai frekuensi yang tinggi di Afrika, Mediterranean, dan populasi Asia yang merupakan wilayah endemik malaria (Gelehrter et al., 1998). Kelainan enzim yang paling umum terjadi pada manusia ini menyebabkan bayi yang baru lahir berwarna kuning, yang dapat menyebabkan "kernicterus" dan kematian atau kelumpuhan. Kelainan ini juga dapat menyebabkan krisis hemolitik yang mengancam jiwa penderita apabila berinteraksi dengan obat-obatan tertentu atau kacang "fava".

Lebih dari 400 varian alelik G6PD telah dideskripsikan pada tingkat protein (Gelehrter et al., 1998; Saha et al., 1995) melalui identifikasi karakteristik secara biokimiawi. Dewasa ini penelitian tentang varian G6PD dilakukan pada tingkat molekular dan terdapat 97 mutasi atau kombinasi mutasi pada berbagai lokasi sepanjang gen G6PD (Beutler et al., 1996).

Aspek genetik dan biologi molekular dari Glukosa-6-fosfat Dehidrogenase

Studi aspek genetik dari penyakit defisiensi G6PD penting untuk menentukan apakah seseorang akan menderita penyakit ini. Gen G6PD terdapat pada lokus q28 kromosom X dan merupakan penyakit genetik bersifat resesif-terpaut kelamin yang lebih banyak diderita oleh pria daripada wanita. Penyakit akibat defisiensi G6PD pada wanita akan muncul bila terdapat dua kopi gen yang defektif dalam genomnya. Selama terdapat satu kopi normal gen

G6PD pada seorang wanita akan diproduksi enzim normal sehingga wanita tersebut hanya seorang karier (pembawa sifat) dengan fenotipe normal. Pada pria hanya terdapat satu kromosom X sehingga satu gen yang defektif pasti menyebabkan defisiensi G6PD.

Dari penelitian pada level DNA diketahui bahwa gen G6PD pada manusia berukuran 18.500 pb, mempunyai 13 exon, 12 'coding' exon, 2269 nukleotida mRNA, dan 515 asam amino (WHO, 1989). Struktur 3 dimensi yang lengkap dari enzim ini belum dapat ditentukan. G6PD adalah bentuk enzim yang aktif, terbentuk dari dua atau empat subunit yang identik dengan berat molekul masing-masing subunit sekitar 59 kilo Dalton. Dari data molekular di atas timbul pertanyaan, "Apakah penyebab defisiensi G6PD berada di tingkat molekular?"

Dewasa ini studi dalam penyakit G6PD memperlihatkan kerusakan molekular pada berbagai varian G6PD. Perubahan dari A menjadi G pada nukleotida 376 pada exon 5 menyebabkan substitusi dari asparagin menjadi asam aspartat pada posisi asam amino 126. Perubahan tersebut berkaitan dengan kecepatan elektroforesis yang lebih besar pada varian A dan A- (varian yang umum di Afrika) dibandingkan varian B (normal). Mutasi kedua pada varian A- yaitu perubahan G menjadi A pada nukleotida 202 pada exon 4 yang melibatkan substitusi valine oleh methionine pada asam amino ke 28 dan diduga berkaitan dengan penurunan kestabilan enzim G6PD (Gelehrter et al., 1998). Pada varian Mediterranean yang dapat menyebabkan anemia hemolitik terdapat adanya perubahan C menjadi T pada nukleotida ke

563 pada exon 6 dan substitusi serine menjadi fenilalanin pada asam amino 188. Perubahan molekular ini menurunkan aktivitas katalitik dan stabilitas enzim pada varian Mediterranean yang mempunyai prevalensi di beberapa populasi Mediterranean dan Asia (Saha et al., 1994).

Lebih dari 90 mutasi telah dideskripsikan pada tingkat DNA dan sebagian besar mutasi dalam bentuk mutasi titik sedangkan sebagian lainnya dalam bentuk delesi beberapa pasangan basa. Hal yang menarik adalah bahwa mutasi utama adalah perubahan dari C menjadi T dengan dinukleotida CpG, diduga mewakili mutasi "hot spot" karena sitosin sering mengalami

metilasi dan 5-metilsitosin dapat mengalami deaminasi spontan menjadi thimidin. Sifat fenotip dari mutasi-mutasi tersebut sangat bervariasi, sebagian besar adalah asimtomatik, sebagian varian menyebabkan anemia hemolitik kronis bahkan tanpa dipicu oleh infeksi atau obat, sebagian lainnya menyebabkan neonatal jaundis yang berat serta kernikterus. Varian dengan akibat yang berat ini disebabkan mutasi pada exon 10 di daerah yang berdekatan dengan tempat pengikatan NADP. Berbagai mutasi yang mengakibatkan penyakit G6PD dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Varian G6PD yang telah dikarakterisasi pada tingkat DNA

Nama Varian	Substitusi nukleotida cDNA	Substitusi asam amino	Nama Varian	Substitusi nukleotida cDNA	Substitusi asam amino
Gaohe, Gaozhou	95 A → G	32 His → Arg	Seattle, Lodi, "Modena", Ferrara II, Athens-like	844 G → C	282 Asp → His
"Honiara"	99 A → G 1360 C → T	33 Ile → Met	Osaka	853 C → T	285 Arg → Cys
"Sunderland"	105-107 del	35 delesi	"Montalbano"	854 G → A	285 Arg → His
"Orissas"	131 C → G	44 Ala → Gly	Viangchan, Jammu	871 G → A	291 Val → Met
"Aures"	143 T → C	48 Ile → Thr	"West Virginia"	910 G → T	303 Val → Phe
"Kozukata"	159 G → C	53 Trp → Cys	Seoul	916 G → A	306 Gly → Ser
"Kamogama"	169 C → T	57 Arg → Trp	Kalyan, Kerala	949 G → A	317 Glu → Lys
"A", Distrito Federal "Matera", Castilla Alabama, BeticaTepic, Ferrara. Laghout, Kabyle	202 G → A 376 A → G	68 Val → Met 126 Asn → Asp	"Nara"	953-976 del	319-326 del
Namoru	208 T → C	70 Tyr → His	Chatham	1003 G → A	335 Ala → Thr
Murcia	209 A → G	70 Tyr → Cys	"Fushan"	1004 C → A	335 Ala → Asp
Swansea	224 T → C	75 Leu → Pro	"Chinese-5"	1024 C → T	342 Leu → Phe
Ube, Konan	241 C → T	81 Arg → Cys	Partenope	1052 G → T	351 Gly → Val
"Lagosanto"	242 G → A	81 Arg → His	"Ierapetra"	1057 C → T	353 Pro → Ser
Urayasu	281-283 AGA del	94 Lys del	Loma Linda	1089 C → A	363 Asn → Lys
"Vancouver"	317 C → G 544 C → T 592 C → T	106 Ser → Cys 182 Arg → Trp 198 Arg → Cys	Calvo Mackenna	1138 A → G	380 Ile → Val

Sao Borja	337 G → A	113 Asp → Asn	Riley	1139 T → C	380 Ile → Thr
A	376 A → G	126 Asn → Asp	"Olomouc"	1141 T → C	381 Phe → Leu
Vanua Lava	383 T → C	128 Leu → Pro	Tomah	1153 T → C	385 Cys → Arg
"Chinese-4"	392 G → T	131 Gly → Val	Iowa, Walter Reed, Iowa City, Springfield	1156 A → G	386 Lys → Glu
"Cairo"	404 A → C	135 Asn → Thr	Guadalajara	1159 C → T	387 Arg → Cys
"Ilesha"	466 G → A	156 Glu → Lys	"Mt. Sinai"	1159 C → T 376 A → G	387 Arg → Cys 126 Asn → Asp
Mahidol	487 G → A	163 Gly → Ser	Beverly Hills, Genova, Worcester	1160 G → A	387 Arg → His
Plymouth	488 G → A	163 Gly → Asp	"Praba"	1166 A → G	389 Glu → Gly
"Chinese-3"	493 A → G	165 Asn → Asp	Winconsin	1177 C → G	393 Arg → Gly
Naone	497 G → A	166 Arg → Hys		1178 C → A	393 Arg → His
"Volendam"	514 C → T	172 Pro → Ser	Alhambra	1180 G → C	394 Val → Leu
"Nankang"	517 T → C	173 Phe → Leu	"Bari"	1187 C → T	396 Pro → Leu
"Shinshu"	527 A → G	176 Asp → Gly	"Puerto Limon"	1192 G → A	398 Glu → Lys
Chikugo	535 A → T	179 Ser → Cys	"Anadia"	1193 A → G	398 Glu → Gly
Malaga	542 A → T	181 Asp → Val	Clinic	1215 G → A	405 Met → Ile
Santamaria	542 A → T 376 A → G	181 Asp → Val 126 Asn → Asp	Riverside	1228 G → T	410 Gly → Cys
Tsukui	561-563 del	188 ataul 189 Ser → del	"Japan", "Shinagawa"	1229 G → A	410 Gly → Asp
Mediterranean, Dallas, Birmingham, "Sassari", "Cagliari", Panama	563 C → T	188 Ser → Phe	Tokyo	1246 G → A	416 Glu → Lys
"Coimbra", "Shunde"	592 C → T	198 Arg → Cys	"Georgia"	1284 C → A	428 Tyr → End
"Santiago"	593 G → C	198 Arg → Pro	"Vansdorf"	3'intron 10 splice site del	N/A
"Sibari"	634 A → G	212 Met → Val	Pawnee	1316 G → C	439 Arg → Pro
Minnesota Marion Gastonia "LeJeune"	637 G → T	213 Val → Leu	Telti, Kobe	1318 C → T	440 Leu → Phe
Harilaou	648 T → G	216 Phe → Leu	"Santiago de Cuba"	1339 G → A	447 Gly → Arg
"Mexico City"	680 G → A	227 Arg → Leu	"S. Antioco"	1342 A → G	448 Ser → Gly
A-	680 G → T 376 A → G	227 Arg → Leu 126 Asn → Asp	"Cassano"	1347 G → C	449 Gln → His
"Asahikawa"	695 G → A	232 Cys → Tyr	Union Maewo	1360 C → T	454 Arg → Cys

Durham	713 A → G	238 Lys → Arg	Andalus	1361 G → A	454 Arg → His
"Stonybrook"	724-729 GGCACT del	242-243 Gly&Thr del	"Cosenza"	1376 G → C	459 Arg → Pro
Wayne	769 G → C	12117C	Canton Taiwan-Hakka Gifu-like Agrigento-like	1376 G → T	459 Arg → Leu
"Cleveland"	820 G → A	274 Glu → Lys	Kamiube	1387 C → T	463 Arg → Cys
Corum					
Wexham	833 C → T	278 Ser → Phe	Kaiping, Anant, Dhon, Petric, Sapporo	1388 G → A	463 Arg → His
"Chinese-1"	835 A → T	279 Thr → Ser	"Fukaya"	1462 G → A	488 Gly → Ser
			"Campinas"	1463 G → T	488 Gly → Val

Keterangan: nama varian dalam tanda kutip belum sepenuhnya dikarakterisasi dengan teknik yang baku. Berbagai varian dari defisiensi G6PD dikarakterisasi berdasarkan aktivitas G6PD pada sel darah merah, kecepatan elektroforesis, konstanta Michaelis (Km), kecepatan relatif penggunaan 2-deoksiglukosa-6-fosfat, dan stabilitas thermal. (WHO, 1967). (Beutler E., 1996, Hematologically Important Mutations: Glucose-6-phosphate Dehydrogenase, Blood Cells, Molecules, and Diseases 29:49-56.)

Penelitian defisiensi G6PD di Indonesia

Dari beberapa penelitian didapatkan adanya korelasi positif antara frekuensi defisiensi G6PD dengan endemisitas penyakit malaria (Nagel R.L., 1988). Berdasarkan kenyataan bahwa Indonesia pernah menjadi daerah endemik malaria maka diduga bahwa frekuensi defisiensi G6PD di Indonesia cukup tinggi. Menurut Saha (1995) defisiensi G6PD mempunyai prevalensi di hampir semua populasi di Asia Tenggara. Dari WHO Technical Report (1967), tercatat bahwa persentase defisiensi G6PD di Indonesia adalah 1,1 %. Penelitian varian molekular G6PD di Indonesia telah dilakukan Soemantri dkk. (1995), mempelajari karakter molekular dari defisiensi G6PD di daerah Jawa Tengah. Penelitian dilakukan pada tempat pemotongan oleh enzim restriksi, keberadaan atau menghilangnya tempat pemotongan enzim restriksi, ternyata berlawanan dengan keadaan pada gen normal. Keadaan ini menandakan adanya mutasi pada posisi tertentu. Identifikasi dengan menggunakan teknik Polymerase Chain Reaction dan elektroforesis dari produk

hasil pemotongan merupakan inti dari penelitian. Dari penelitian tersebut,

Daftar Pustaka

- Beutler, E., Vulliamy T., Luzatto, L., 1996, Hematologically Important Mutations: Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, Blood Cells, Molecules, and Diseases 22(4):49-56.
- Gelehrter, T.D., Collins, F.S., Ginsburg D., 1998, Principles of Medical Genetics, 2001 ed, Williams & Wilkins
- Saha, N., Saha, A., Tay, J.S.H., Jeyaseelan, K., Basair, J.B., Chew, S.E., 1994, Molecular Characterisation of Red Cell Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency in Singapore Chinese, American Journ. of Hematology 47:273-277.
- Soemantri, A.G., Saha, A., Saha N., Tay, J.S.H., 1995, Molecular Variants of Red Cell Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency in Central Java, Indonesia, Human Heredity 45:346-350.
- WHO Working Group, 1989, Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Bull WHO 67:601-611.
- WHO Technical Report Series, 1967, Standardization of procedures for the

Study of Glucose-6-Phosphate
Dehydrogenase, WHO, Geneva.